

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

**Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske
dijagnostike**

Silvija Osvald

**VERIFIKACIJA BD BARRICOR
VACUTAINER EPRUVETA ZA HITNE
LABORATORIJSKE PRETRAGE**

Diplomski rad

Osijek, 2018.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

**Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske
dijagnostike**

Silvija Osvald

**VERIFIKACIJA BD BARRICOR
VACUTAINER EPRUVETA ZA HITNE
LABORATORIJSKE PRETRAGE**

Diplomski rad

Osijek, 2018.

Rad je ostvaren u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Osijek

Mentor rada: doc. dr. sc. Sanja Mandić, spec. med. biok. i lab. medicine

Rad ima četrdeset dva lista, četiri tablice i četiri slike.

ZAHVALA

Srdačno se zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Sanji Mandić, spec. med. biok. i lab. medicine, na ukazanom povjerenju, dobroj volji, pruženoj pomoći te praćenju cjelokupnog procesa izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Vatroslav Šerić, mag. med. biochem, pročelniku Zavoda za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Štefici Klisurić, bacc.med.lab.diagn, glavni prvostupnik medicinsko-laboratorijske dijagnostike te kolegicama i kolegama na dostupnosti i nesebičnoj pomoći.

Hvala mojim dragim kolegicama TBG i prijateljima, koji su mi, ponekad teške studentske dane, činili sretnijim te na bilo koji način pomogli tijekom studija i izrade ovog diplomskog rada.

Posebno se zahvaljujem suprugu Mariu, kćerima Luciji i Greti na bezuvjetnoj ljubavi i strpljenju, razumijevanju te velikoj potpori koju su mi pružali još od prve godine moga studiranja. Hvala mojim roditeljima, seki i suprugovoj majci koji su me podržavali i bili čvrst oslonac tijekom cijelog studija.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Upravljanje kvalitetom predanalitičke faze laboratorijskog rada.....	1
1.1.1. Kriteriji prihvatljivosti uzorka	1
1.1.2. Utjecaj epruveta na rezultate pretraga.....	2
1.1.3. Pokazatelji kvalitete predanalitičke faze laboratorijskog rada.....	2
1.2. Uzorak za analizu	4
1.2.1. Razlike u koncentraciji biokemijskih parametara između seruma i plazme.....	4
1.2.2. Stabilnost uzorka.....	5
1.3. Vrijeme od uzorkovanja do izavanja nalaza	5
1.4. Verifikacija epruveta	6
1.4.1. Klinički prihvatljivi kriteriji.....	7
1.4.2. Tehničke karakteristike epruveta	7
2. HIPOTEZA	8
3. CILJEVI	9
4. ISPITANICI I METODE	10
4.1. Ustroj studije.....	10
4.2. Ispitanici	10
4.3. Metode	11
4.4. Statističke metode.....	13
5. REZULTATI.....	14
6. RASPRAVA.....	25
7. ZAKLJUČAK	28
8. SAŽETAK.....	29
9. SUMMARY	31
10. LITERATURA.....	33
11. ŽIVOTOPIS	35

I. POPIS KRATICA

NaF– natrijev-fluorid

Na - natrij

K – kalij

LDH – laktat- dehidrogenaza

GUK – glukoza u krvi

cTn – srčani troponin (engl. *cardiactroponin*)

CK-MB – kretin-kinaza srčani izoenzim (engl. *creatinekinase-myocardial band*)

Ca – kalcij (engl. *calcium*)

Cl – kloridi (engl. *chlorides*)

P – fosfor (engl.*phosphorus*)

ALP – alkalna-fosfataza (engl. *alkalis-phosphatase*)

CK – kreatin-kinaza (engl. *creatine-kinase*)

AST –aspartat-aminotransferaza

GGT – gama-glutamilttransferaza

ALT – alanin-aminotransferaza

TAT –mjera vremenskog razdoblja između uzorkovanja i izvješća o nalazu (engl. *Turn-around time*)

CLSI – Institut za kliničke i laboratorijske standarde (engl. *Clinical and Laboratory Standards Institute*)

RST – brza serumska epruveta za prikupljanje krvi (engl. *Rapid Serum Tube*)

LH – litijev-heparin

CRP – C reaktivni protein

Na – natrij

Mgb – mioglobin

FT3 – slobodni trijodtironin

FT4 –slobodni tiroksint

TSH – tireotropin (engl. *thyroid stimulating hormone*)

1. UVOD

1.1. Upravljanje kvalitetom predanalitičke faze laboratorijskog rada

Upravljanje kvalitetom predanalitičke faze laboratorijskog rada predstavlja zbroj procesa i aktivnosti kojima je cilj smanjiti mogućnosti pogrešaka i povećati učinkovitost sustava (1). Predanalitička faza najveći je i najkritičniji dio laboratorijskog procesa koji određuje kvalitetu uzorka. Kako se na temelju rezultata laboratorijskih pretraga donosi oko 60-80% liječničkih odluka, svaka pogreška u ovom segmentu cjelokupnog laboratorijskog procesa može imati ozbiljne posljedice na ishod liječenja (2). Dakle, predanalitička faza važna je komponenta ukupne laboratorijske kvalitete (3).

1.1.1. Kriteriji prihvatljivosti uzorka

Kriteriji prihvatljivosti za sve uzorke zaprimljene u laboratorij, moraju se temeljiti na nacionalnim i međunarodnim normama i smjernicama. Svaki uzorak mora biti pravilno skupljen, u određeno vrijeme i uz pravilnu pripremu pacijenta. Propisani kriteriji trebaju se poštovati; osim toga, treba voditi evidenciju o svim odstupanjima. Samo pravilno označeni uzorak, skupljen nakon adekvatne pripreme pacijenta u propisanu vrstu spremnika (epruveta), dostavljen u zadovoljavajućim uvjetima i vremenu, može poslužiti za laboratorijsku analizu. Stoga, među kriterije prihvatljivosti svakako treba ubrojiti sljedeće:

1. priprema bolesnika u skladu s propisanim pravilima (natašte, odgovarajuće vrijeme u danu, mjesecu i sl.)
2. nužni podaci na uputnici
3. vrijeme i način uzorkovanja (produljeno stajanje staze i podveza)
4. vrsta epruvete (aditiva), redoslijed uzimanja krvi
5. identifikacija bolesnika i propisno označen uzorak
6. volumen uzorka
7. odnos uzorka i antikoagulansa
8. uvjeti dostave (temperatura)
9. kvaliteta uzorka (zgrušani uzorak, prisutnost hemolize, ikterije i lipemije).

1.1.2. Utjecaj epruveta na rezultate pretraga

Izbor epruvete ovisi o vrsti uzorka koji želimo analizirati. Proizvođači reagensa daju preporuku o izboru uzoraka za pojedine analize, a laboratorij na temelju preporuka treba definirati vrstu epruveta kojom će biti zadovoljeni potrebni kriteriji. Epruvete ne bi smjele utjecati na rezultate pretraga, no unatoč tome, ne smije se zanemariti činjenica da one nisu inertni spremnici uzoraka krvi. Brojni sastojci koji se nalaze u epruvetama mogu značajno utjecati na rezultate laboratorijskih analiza. Tako različiti antikoagulansi, aktivatori zgrušavanja, surfaktanti ili gelovi za odvajanje plazme i seruma od stanica mogu stupati u interakcije s nekim analitima te tako utjecati na rezultate pretraga. Unatoč široko rasprostranjenoj upotrebi epruveta s gelom za brže zgrušavanje krvi, utvrđeno je da tijekom analize može doći do apsorpcije analita u gel, što može utjecati na rezultate pretraga (4,5,6). Također, interferirati mogu i materijali od kojih su epruvete izrađene ili sredstva za podmazivanje čepova na epruvetama. Sve navedeno može utjecati na rezultate, mijenjajući fizikalno-kemijska svojstva proteina plazme, te tako na vezanje proteina i drugih molekula na molekule nosače.

1.1.3. Pokazatelji kvalitete predanalitičke faze laboratorijskog rada

Svaki medicinsko–biokemijski laboratorij mora uspostaviti, dokumentirati i primjenjivati kriterije za prihvaćanje i odbijanje primarnih uzoraka koji su tada jasni pokazatelji kvalitete predanalitičke faze. Oni moraju biti jasni i mjerljivi.

Najčešći indikatori kvalitete predanalitičke faze:

1. Pogreške u identifikaciji
 - udio uputnica s nepotpunim ili pogrešnim podacima u odnosu na ukupan broj uputnica
 - udio pogrešno označenih ili neoznačenih uzoraka u odnosu na ukupan broj uzoraka pacijenata koji krv vade u laboratoriju, na odjelu, u ordinaciji ili kod kuće
 - udio uzoraka za koje nedostaje uputnica u odnosu na ukupan broj uputnica
2. Pogreške u propisivanju pretraga
 - udio uputnica s pogrešno naznačenom pretragom u odnosu na ukupan broj uputnica pacijenata koji krv vade u laboratoriju, na odjelu, u ordinaciji ili kod kuće

- udio neprimjereno naručenih pretraga koji nisu u skladu s kliničkim smjernicama
 - udio uputnica s neizvršenim pretragama u odnosu na ukupan broj uputnica pacijenata koji krv vade u laboratoriju, na odjelu ili kod kuće
3. Neispravna vrsta uzorka
- udio uzoraka dostavljenih u pogrešnoj epruveti u odnosu na ukupan broj uzoraka
4. Neprihvatljivi uzorci
- udio hemolitičnih uzoraka za analizu u odnosu na ukupan broj uzoraka
 - udio zgrušanih uzoraka za analizu u odnosu na ukupan broj uzoraka
5. Uzorci s nedovoljnim volumenom
- udio uzoraka s nedovoljnim volumenom za analizu u odnosu na ukupan broj uzoraka
 - udio uzoraka s pogrešnim omjerom uzorka i antikoagulansa u odnosu na broj uzoraka s antikoagulansom.
6. Pogreške u dostavi i pohrani uzoraka:
- udio uputnica za koji nije zaprimljen uzorak u odnosu na ukupan broj uputnica
 - udio nepropisno pohranjenih uzoraka u odnosu na ukupan broj uzoraka
 - udio oštećenih uzoraka tijekom dostave u odnosu na ukupan broj uzoraka u dostavi
 - udio uzoraka čija se dostava obavlja na nepropisnoj temperaturi u odnosu na ukupan broj dostavljenih uzoraka
 - udio uzoraka dostavljenih nakon propisanog vremena u odnosu na ukupan broj uzoraka
7. Nesukladni uzorci:
- udio hemolitičnih i koaguliranih uzoraka u odnosu na ukupan broj uzoraka
 - udio pogrešno prikupljenih uzoraka 24–satnog urina
8. Udio kontaminiranih uzoraka
9. Udio uzoraka krvi izvađenih u nepropisnom vremenu

1.2. Uzorak za analizu

U većini biokemijskih laboratorija, kao uzorak izbora, do nedavno se koristio serum. Međutim, u novije vrijeme vrstu uzorka definira sam laboratorij, a izbor ovisi o zahtjevima samog laboratorija i korisnika njegovih usluga. Iako su danas dostupni sustavi epruveta s aktivatorima zgrušavanja i gel separatorima, što značajno skraćuje vrijeme dobivanja uzorka seruma, veliki broj biokemijskih laboratorija koristi plazmu kao uzorak.

Serum je uzorak dobiven venepunkcijom u epruvetu bez antikoagulansa. Nakon spontanog zgrušavanja i pravilnog centrifugiranja, dobiveni uzorak ne sadrži stanice niti fibrinogen te je vrlo stabilan (1).

Plazma je uzorak dobiven venepunkcijom u epruvetu s antikoagulansom, te je odmah spreman za centrifugiranje. U svrhu izrade biokemijskih analiza od antikoagulansa mogu se koristiti heparin u obliku litijeve, kalijeve, natrijeve i amonijeve soli, natrijev-fluorid (NaF), natrijev jodoacetat, natrijev citrat, oksalat (kalijev, natrijev, amonijev i litijev) te kalijeva i natrijeva sol etilendiaminotetraoctene kiseline (K_2EDTA , K_3EDTA i Na_2EDTA). Propisanim centrifugiranjem dobiveni uzorak je plazma s vrlo niskim brojem stanica i trombocita.

Oba uzorka imaju svoje prednosti i nedostatke koje je potrebno uzeti u obzir prilikom implementacije određenog sustava.

1.2.1. Razlike u koncentraciji biokemijskih parametara između seruma i plazme

Za većinu biokemijskih parametara uzorak seruma i heparinizirane plazme smatra se jednako vrijednim, no ne smijemo zanemariti činjenicu da ipak postoje razlike u koncentracijama određenih analita. Značajne razlike između seruma i plazme uočene su kod koncentracije kalija (K). Koncentracija K u serumu je statistički i klinički značajno viša od koncentracije u plazmi zbog oslobađanja K iz stanica tijekom zgrušavanja. Tijekom zgrušavanja iz trombocita oslobađa se i laktat-dehidrogenaza (LDH) te dolazi do lažno povišene aktivnosti LDH-a u uzorku seruma. Koncentracija ukupnih proteina niža je u serumu nego u plazmi, jer serum ne sadrži fibrinogen (7). Koncentracija glukoze (GUK-a) niža je u plazmi nego u serumu, jer djelovanjem antikoagulansa dolazi do pomaka tekućine iz eritrocita u plazmu. Također je dokazano da su koncentracije srčanog troponina T (cTnT; engl. *cardiac troponin T*) i

troponina I niže u plazmi nego u serumu zbog interferencije heparinom ili učinka matriksa. Za razliku od troponina, aktivnost kreatin-kinaze srčanog izoenzima (CK-MB; engl. *creatine kinase-myocardial band*) povišena je u plazmi. Osim navedenih analita, uočene su razlike u koncentraciji kalcija (Ca; engl. *calcium*), klorida (Cl; engl. *chlorides*), fosfata (P; engl. *phosphates*) i aktivnosti nekih enzima, alkalne fosfataze (ALP; engl. *alkalis-phosphatase*), kreatin-kinaze (CK; engl. *creatine-kinase*), aspartat-aminotransferaze (AST). U mnogim radovima ispitivane su razlike u koncentracijama biokemijskih parametara, ali rezultati su u većini slučajeva oprečni (1).

1.2.2. Stabilnost uzorka

Nerijetko je potrebno naknadno analiziranje nekih uzoraka te zbog toga svaki medicinsko-biokemijski laboratorij mora propisati uvjete čuvanja i navesti najduže vrijeme pohrane uzorka. U pravilu, serum je uzorak duže stabilnosti u odnosu na plazmu (8). Uobičajeno se serum ili plazma za opće medicinsko biokemijske pretrage mogu pohraniti: četiri sata na sobnoj temperaturi, dvadeset četiri sata na +4°C te nekoliko dana do nekoliko mjeseci na -20°C. Pri tome se epruvete trebaju čuvati zatvorene radi sprječavanja isparavanja i kondenzacije. Odmah poslije centrifugiranja preporuča se odvajanje seruma ili plazme, kako bi se omogućila optimalna stabilnost analita u uzorku. Ovim postupkom sprječava se utjecaj staničnog metabolizma, kao i pasivni prijelaz analita iz stanica u serum ili plazmu te je tako spriječena i promjena koncentracije analita u uzorku. Ako je serum ili plazma u duljem kontaktu sa stanicama iz krvi, dolazi do statistički i klinički značajnog povećanja koncentracija pojedinih analita, poput K, kreatinina, ukupnih proteina, albumina, Ca, magnezija, LDH, gama-glutamilttransferaze (GGT). Dugotrajnim kontaktom seruma ili plazme sa stanicama dolazi do smanjenja koncentracije GUK-a, urata te aktivnosti alanin-aminotransferaze (ALT). Prema provedenim istraživanjima, plazma je dokazano manje stabilan uzorak od seruma (9).

1.3. Vrijeme od uzorkovanja do izdavanja nalaza

Bilježenje vremena uzorkovanja početna je točka za određivanje ukupnog vremena za analizu. Kao mjera razdoblja između uzorkovanja i izvješća o nalazu može se prihvatiti medijan TAT-a (TAT; engl. *Turn-around time*), prosječno vrijeme potrebno za neku fazu mjereno u

minutama. Osoblje laboratorija TAT najčešće sagledava kao vrijeme proteklo od primitka uzorka do izdavanja nalaza, jer su to podatci koje laboratorij može pratiti. S druge strane, za liječnike TAT najčešće predstavlja vrijeme koje je proteklo od trenutka zadavanja pretrage do primitka nalaza. TAT je također dobar primjer indikatora kvalitete ključnih procesa u laboratoriju. Budući da je u hitnoj službi jedan od glavnih zahtjeva liječnika što kraće vrijeme do izdavanja nalaza, cilj je laboratorija ostvariti taj zahtjev, uglavnom kroz skraćanje predanalitičke faze (10).

1.4. Verifikacija epruveta

Svaku novu ili izmijenjenu epruvetu, koja se uvodi u rutinski rad laboratorija, potrebno je verificirati, odnosno procijeniti odgovara li specifikacijama proizvođača. Cilj verifikacije je ispitati jesu li rezultati dobiveni iz uzorka u novim ispitivanim epruvetama usporedivi s rezultatima iz kontrolnih epruveta. Institut za kliničke i laboratorijske standarde (CLSI; engl. *Clinical and Laboratory Standards Institute*), izdao je 2010. godine prve smjernice za validaciju i verifikaciju epruveta za uzorkovanje venske i kapilarne krvi (engl. *Validation and verification tubes for venous and capillary blood specimen collection; approved guideline, GP34-A*). Preporuka je da se verifikacija epruveta provodi prema objavljenim smjernicama koje opisuju postupak verifikacije po koracima. Međutim, svaki laboratorij sam donosi odluku hoće li nove epruvete verificirati ili će preuzeti podatke iz dostupne literature, odnosno iz specifikacije proizvođača. Proizvođači epruveta ne testiraju nove epruvete za sve dostupne metode i analizatore te je laboratorij odgovoran ispitati karakteristike epruveta za pretrage od vlastitog interesa. Pri tome treba obuhvatiti sve vrste metoda, na svim dostupnim analizatorima na kojima će se određivati pretrage iz ispitivanih epruveta i ispitati razlike u rezultatima između postojećih i novih epruveta. Neke od ključnih pretraga su elektroliti, enzimi i specifični proteini. Prije samog postupka verifikacije laboratorij je dužan odrediti protokol sa strogo određenim koracima, bilo da slijedi smjernice CLSI-a ili je sam modificirao točke u smjernicama prema vlastitim potrebama. Zbog mogućih interferencija u sastavu epruveta ili u sastavu aditiva važno je procijeniti interferira li sadržaj epruveta s rezultatom pojedinih pretraga(11).

1.4.1. Klinički prihvatljivi kriteriji

Kako je već navedeno, cilj verifikacije epruveta je ispitati jesu li rezultati dobiveni iz uzorka u novim epruvetama usporedivi s rezultatima iz kontrolnih epruveta. Pri tome treba izračunati razlike u rezultatima u području vrijednosti kliničke odluke. Statistički značajna razlika u rezultatima između kontrolnih i novih epruveta ne mora značiti da su nove epruvete lošije u odnosu na stare. Ako se javi statistički značajna razlika, bitno je procijeniti u kojem se rasponu vrijednosti razlika javila i je li ta razlika klinički značajna. Vrlo je bitno provoditi usporedivost rezultata u širokom mjernom području. Dvije vrste epruveta smatraju se klinički istovjetnim, ako razlika u rezultatima ne utječe na dijagnozu, praćenje bolesnika ili odabir terapije (12,13).

1.4.2. Tehničke karakteristike epruveta

Prilikom verifikacije ne smiju se zanemariti ni tehničke karakteristike epruveta. Danas su u uporabi plastične epruvete koje moraju biti vodootporne, prozirne i ne smiju propuštati zrak iz okoline. Također, čep mora biti prilagođen lakom bušenju te vađenju igle van, održavajući unutarnju razliku tlaka (14).

2. HIPOTEZA

Hipoteza ovog istraživanja je da nema razlike u vizualnim karakteristikama i rezultatima analiziranih parametara između testne i referentne epruvete te da se postojeći sustav (RST epruvete, engl. *Rapid Serum Tube*) može zamijeniti novim BD Barricor epruvetama bez promjene referentnih intervala.

3. CILJEVI

Glavni cilj: verificirati epruvete BD Barricor za odabrane analite iz hitnog programa pretraga

Specifični ciljevi:

1. Vizualnim pregledom ispitati postoji li razlika u kvaliteti uzorka između RST-a i BD Barricor epruveta
2. Analitičkom procjenom ispitati postoji li klinički neprihvatljiva razlika u rezultatima odabranih analita
3. Usporediti stabilnost uzoraka za odabrane parametre.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Ustroj studije čini opservacijsko istraživanje.

4.2. Ispitanici

U istraživanju je sudjelovalo četrdeset sedam pacijenata, različite životne dobi. Uzorci su prikupljeni s različitih odjela Kliničkog bolničkog centra Osijek (KBC), (Tablica 1.). Uzorci venske krvi prikupljeni su venepunkcijom u RST epruvete, te dodatno u Barricor LH (litijev-heparin) epruvete. Iz dobivenih uzoraka napravljene su analize iz hitnog programa biokemijskih i imunokemijskih analiza.

Tablica 1. Prikaz raspodjele pacijenata prema odjelima

ODJEL	BROJ PACIJENATA	MUŠKARCI	ŽENE
Zavod za nefrologiju	5	2	3
Zavod za bolesti srca i krvnih žila	10	6	4
Zavod za gastroenterologiju i hepatologiju	5	2	3
Zavod za endokrinologiju	5	3	2
Zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja	5	2	3
Centralni objedinjeni hitni prijem	17	10	7
UKUPNO :	47	25	22

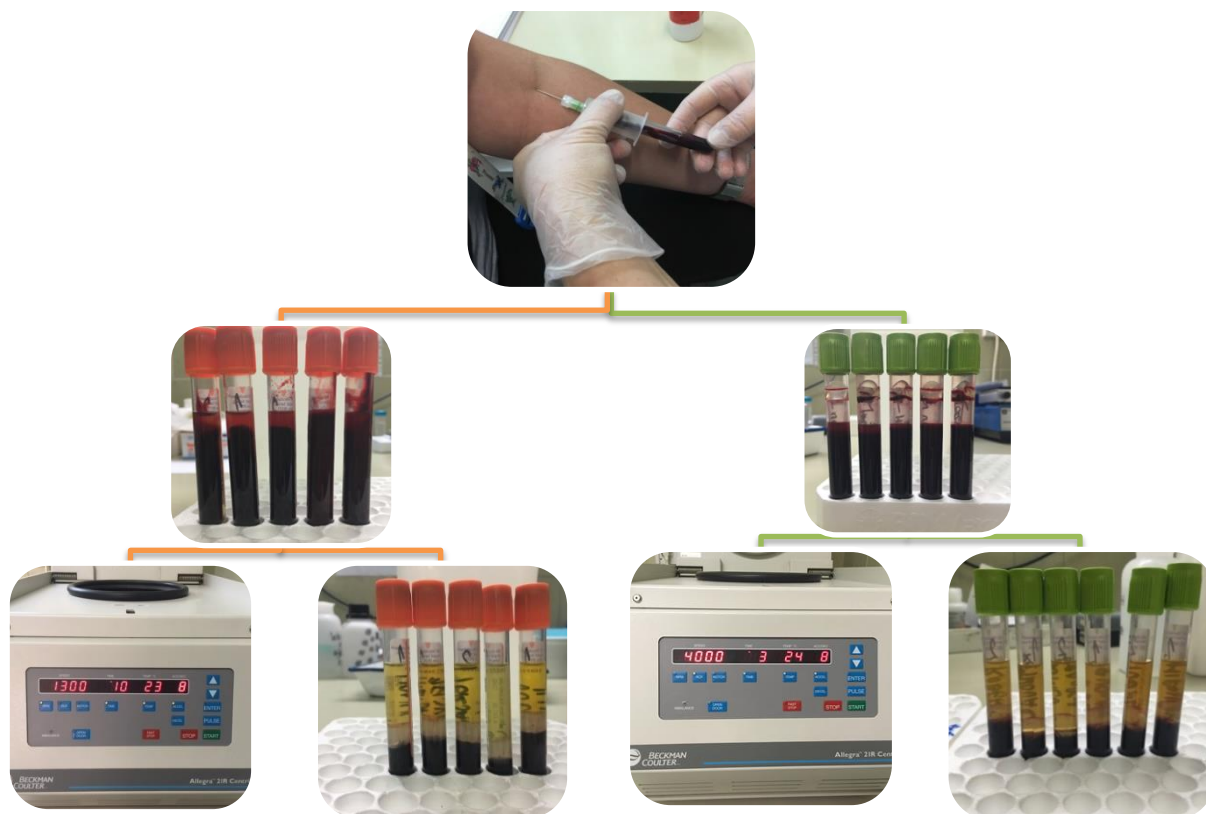
4.3. Metode

Uzorci venske krvi prikupljeni su između osam i deset sati ujutro, natašte, osim pacijentima zaprimljenim na COPH-u. Njima je krv uzeta između osam i dvanaest sati, i nisu svi bili natašte. Svi su ispitanici upoznati s postupkom i vrstom istraživanja te su potpisali informirani pristanak. Svim se ispitanicima uzorkovala venska krv dobivena venepunkcijom iz središnje kubitalne vene. Korištene su sterilne jednokratne igle, BD Vacutainer, Eclipse, Blood Collection Needle REF 368609, 21Gx1-1/4“ (0,8x32 mm). Uzorci krvi uzeti su u jednokratnu zatvorenu serumsku epruvetu BD Vacutainer RST od 5ml, 13x75mm, kataloški broj (REF) 368774 (Slika 1), promiješane odmah pet do šest puta. Dodatno se uzorkovalo u jednokratne, sterilne zatvorene epruvete s podtlakom, BD Vacutainer Barricor LH Plasma, od 4,5 ml, 13x75mm, REF 365030 (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) (Slika 1), uzorak je odmah promiješan osam puta. Krv se uzorkovala naizmjenično u RST i Barricor LH epruvete. Uzorci venske krvi dobiveni venepunkcijom u RST epruvete centrifugirani su unutar trideset minuta od uzorkovanja, deset minuta pri 1300 g. Tim se postupkom odvojio serum od stanica, koji je poslužio za mjerenje koncentracija odabranih analita iz hitnog programa. Uzorci dobiveni venepunkcijom u Barricor LH epruvete, također su centrifugirani unutar trideset minuta od uzorkovanja, tri minute pri 4000 g u centrifugi s horizontalnom glavom (Beckman Coulter, Allegra 2IR Centrifuge). Dobivena plazma korištena je također za mjerenje koncentracije odabranih analita iz hitnog programa. Shematski prikaz postupka pripreme uzorka prikazan je na fotografiji 2.



Slika 1. BD Vacutainer Barricor LH i RST epruvete

Prije samog centrifugiranja napravljena je vizualna procjena volumena krvi u epruveti. Dozvoljeno odstupanje je $\pm 10\%$ od ukupnog volumena. Uzorci kod kojih je uočeno veće odstupanje isključeni su iz istraživanja. Nakon centrifugiranja, napravljena je vizualna procjena i usporedba uzoraka. Procijenjeno je stvaranje barijere u obje vrste epruveta. Kod potpunog stvaranje barijere uzorci su označeni a K (kompletno), ako barijera nije kompletno formirana, odnosno ako je slaba i postoji kontakt između stanica i plazme/seruma, uzorci su označeni s N (ne kompletno). Uzorci gdje uopće nije došlo do odvajanja stanica od seruma/plazme, označeni su s 0. Uzorci označeni s N ili 0 isključeni su iz istraživanja. Vizualna procjena vidljive hemolize obilježena je 0-3, prihvatljivi uzorci su se smatrali oni čiji je stupanj 0 i 1. Prisutnost stvaranja fibrinskog ugruška također je zabilježena: 0 nema fibrina, 1 fibrin prisutan. Prihvatljivi su uzorci obilježeni sa 0.



Slika 2. Shematski prikaz postupka pripreme uzorka za analizu

Iz dobivenih uzoraka seruma i plazme, napravljena su mjerenja analita iz hitnog programa. C-reaktivni protein (CRP) izmjeren je imunoturbidimetrijskom metodom (Beckman Coulter, Brea, California, USA). GUK, CK, CK-MB, AST, ALT, ALP, LDH, GGT, urea, kreatinin, amilaza, urati izmjereni su enzimatskom metodom (Beckman Coulter, Brea, California, USA). Ca, proteini i albumini su izmjereni fotometrijskom metodom, te elektroliti natrij (Na), K i kloridi (Cl; engl. chlorides) izmjereni su indirektnom potenciometrijom. Za sve navedene analite korišten je analizator Olympus AU680 (Beckman Coulter, Inc., USA). cTnI i mioglobin (Mgb) su izmjereni imunokemijskom metodom na analizatoru Dimension EXL s LM (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, USA). Hormoni štitnjače: slobodni trijodtironin (FT3), slobodni tiroksin (FT4) te tireotropin (TSH) su izmjereni na Architect i2000SR instrumentu (Abbott Laboratories, Lake Forest, USA) kemiluminiscentnom mikročestičnom imunoanalizom.

4.4. Statističke metode

Rezultati su obrađeni statističkim programom MedCalc, verzija 12.4.0.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium). Za prikaz podataka korištena je deskriptivna statistika. Raspodjela podataka je ispitana Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Ovisno o normalnosti raspodjele podaci su prikazani kao srednje vrijednosti i standardne devijacije (SD) ili kao medijani i interkvartilni rasponi (IQ). Postupak ispitivanja razlike u vrijednostima između dvije serije zavisnih podataka proveden je pomoću parnog t-testa (ako su podaci slijedili normalnu raspodjelu) ili pomoću Wilcoxon testa (ako su podaci slijedili ne normalnu raspodjelu). Netočnost za svaki par mjerenja izračunata je prema formuli: $\text{razlika mjerenja (\%)} = [(\text{rezultat iz testne epruvete} - \text{rezultat iz referentne epruvete}) / \text{rezultat iz referentne epruvete}] \times 100$. Aritmetička sredina svih razlika mjerenja za neki analit predstavljala je netočnost (engl. *bias*). Izračunata netočnost je potom uspoređena s trenutnim poželjnim dozvoljenim netočnostima za svaki analit koje predstavljaju specifikacije kvalitete temeljene na biološkoj varijabilnosti (15). Passing-Bablok regresijska analiza, te Bland i Altmanov prikaz podataka korišteni su za obradu i prikaz podataka dobivenih iz dva različita sustava za uzorke. $P < 0,05$ je predstavljala razinu značajnosti koja se koristila za ocjenu značajnosti dobivenih rezultata.

5. REZULTATI

Ovim istraživanjem analizirano je četrdeset sedam uzoraka pacijenata, prosječne dobi šezdeset pet godina (22-87), među kojima je bilo dvadeset dvije ispitanice ženskog i dvadeset pet ispitanika muškog spola.

Vizualnom procjenom epruveta, nakon uzorkovanja, utvrđeno je da su sve epruvete bile napunjene unutar prihvatljivih granica odstupanja. Nakon centrifugiranja u svim je uzorcima kompletno stvorena barijera, te nije bilo kontakta između stanica i seruma/plazme. Niti jedan uzorak nije bio hemolitičan i niti u jednom nije bilo prisutno fibrinskih niti. Dakle, svi uzorci su bili adekvatni prema kriterijima kvalitete, te je u svima napravljena analiza svih dvadeset pet predviđenih analita iz hitnog programa, osim kod četiri pacijenta. Kod tih pacijenata nisu napravljeni hormoni štitnjače (TSH, FT4 i FT3), zbog nemogućnosti rada na instrumentu predviđenom za navedene analize, u trenutku kada je to bilo potrebno.

Rezultati usporedbe testne epruvete (Barricor) s referentnom epruvetom (RST) u inicijalnom vremenu (0) prikazani su u tablici 2. Statistički značajna razlika utvrđena je za parove vrijednosti pri određivanju K, Ca, Cl, CK, ALP, GGT, urata, proteina, CRP, TnI i TSH. Razlika za K i proteine bila je također klinički značajna usporedbom s kriterijima poželjne, dozvoljene netočnosti, temeljenoj na biološkoj varijabilnosti (15).

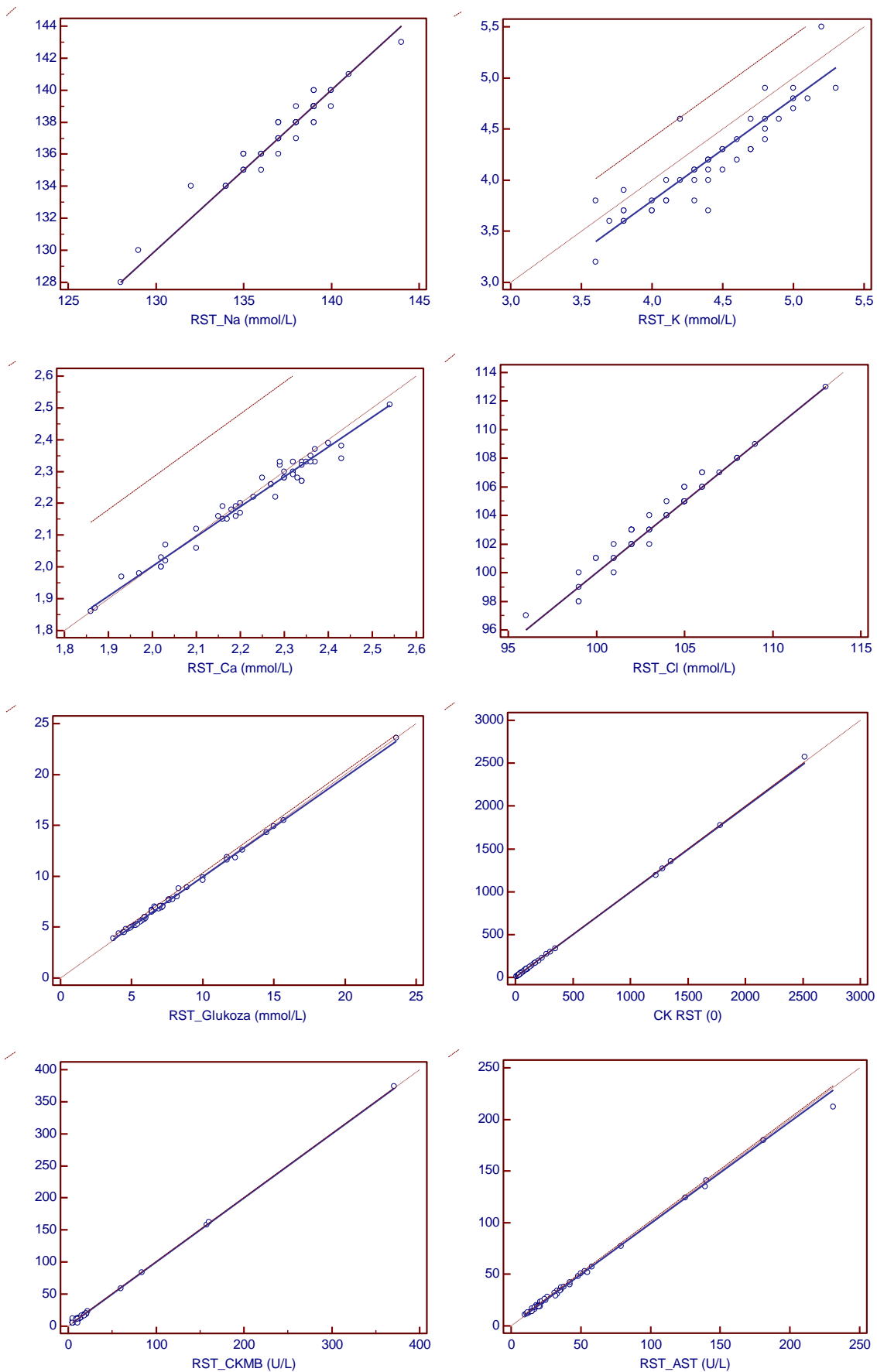
Tablica 2. Usporedba rezultata biokemijskih parametara između RST i Barricor epruveta u inicijalnom vremenu

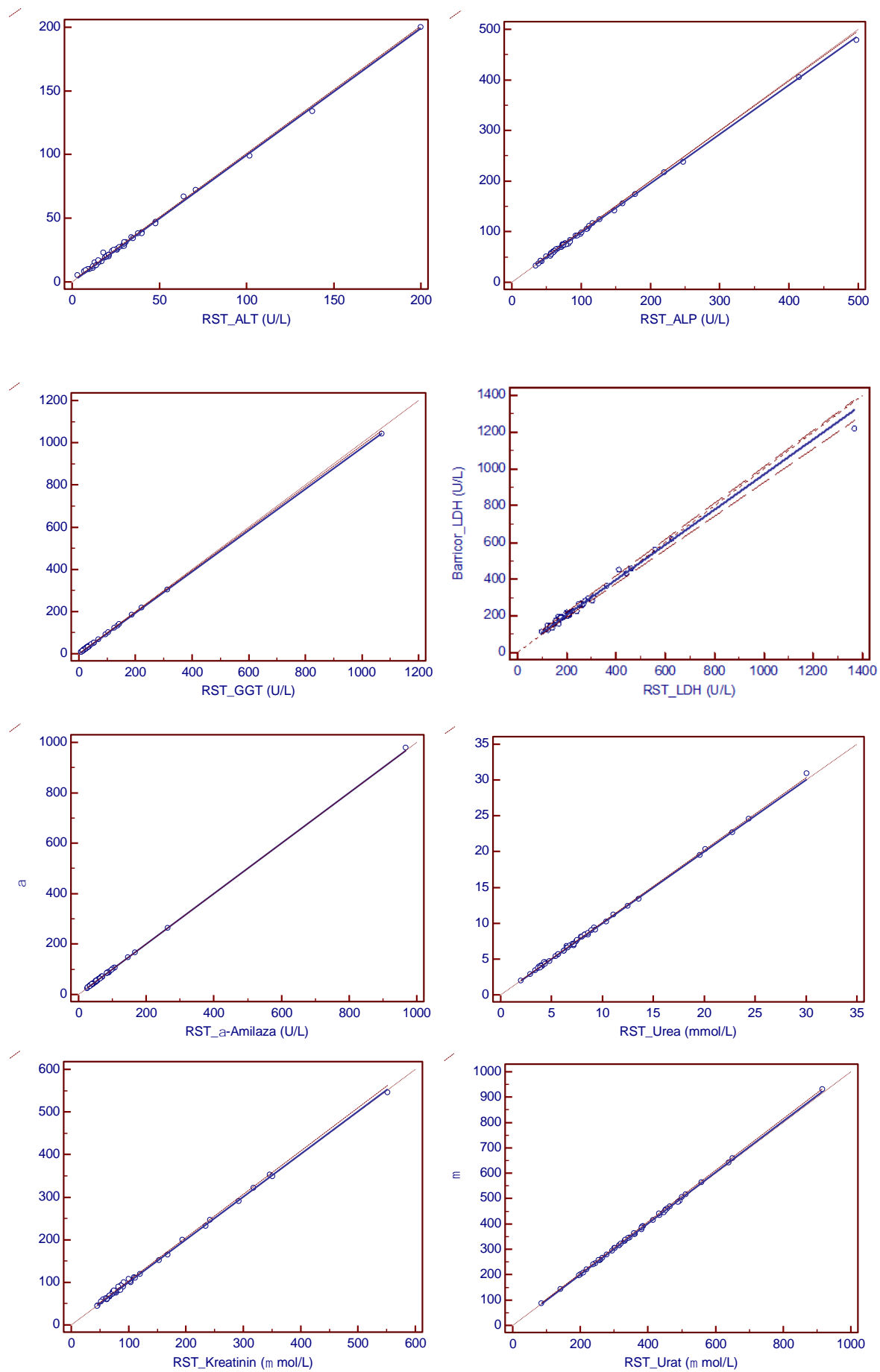
ANALIT	JEDINICE	N parova	RST	BARRICOR	PROSJEČNA NETOČNOST (%)	POŽELJNA DOZVOLJENA NETOČNOST(%)	P
Na	mmol/L	47	137±3	137±3	0,08	0,23	0,280
K	mmol/L	47	4,4±0,4	4,2±0,5	-4,95	1,81	<0,001
Ca	mmol/L	47	2,23±0,15	2,21±0,14	-0,53	0,82	0,005
Cl	mmol/L	47	103±3	104±3	0,25	0,5	0,006
Glukoza	mmol/L	47	6,6 (5,6-8,3)	6,8 (5,5-8,6)	0,41	2,34	1,000*
CK	U/L	47	77 (42-172)	77 (42-168)	-0,87	11,5	0,008*
CKMB	U/L	47	12 (8-18)	12 (9-18)	6,10	7,8	0,577*
AST	U/L	47	24 (17-42)	25 (18-42)	0,59	6,54	0,567*
ALT	U/L	47	24 (17-42)	25 (18-42)	2,53	11,48	0,567*
ALP	U/L	47	75 (60-106)	74 (59-103)	-2,29	6,72	<0,001*
LDH	U/L	47	203 (156-268)	204 (162-266)	2,06	4,3	0,195*
GGT	U/L	47	30 (18-54)	29 (17-52)	-3,37	11,06	<0,001*
Urea	mmol/L	47	7,1 (4,4-8,8)	6,9 (4,5-8,9)	0,14	5,57	0,889*
Kreatinin	μmol/L	47	86 (72-112)	90 (73-111)	1,20	3,96	0,095*
α-Amilaza	U/L	47	59 (42-86)	60 (42-86)	-0,48	8,0	0,163*
Urat	μmol/L	47	369±144	370±146	0,27	4,87	0,008
Proteini	g/L	47	67,5±6,9	70,2±6,5	4,15	1,36	<0,001
Albumini	g/L	47	38,4±6,1	38,3±5,8	-0,05	1,43	0,403
CRP	mg/L	47	6,3 (1,3-18,7)	6,3 (1,4-18,7)	0,20	21,8	0,003*
Bilirubin	μmol/L	47	12 (8-15)	12 (8-16)	0,08	8,95	0,123*
TnI	ng/L	47	9 (9-117)	9 (9-121)	1,52	16,32	0,019*
Mioglobin	μg/L	47	56 (37-105)	56 (36-102)	-0,27	8,2	0,803*
TSH	mIU/L	43	1,250 (0,580-2,534)	1,310 (0,605-2,606)	2,81	7,8	0,002*
FT3	pmol/L	43	3,45 (2,82-4,29)	3,50 (2,81-4,44)	0,59	4,8	0,177*
FT4	pmol/L	43	13,08 (11,72-14,36)	13,02 (11,69-14,21)	-0,43	3,3	0,289*

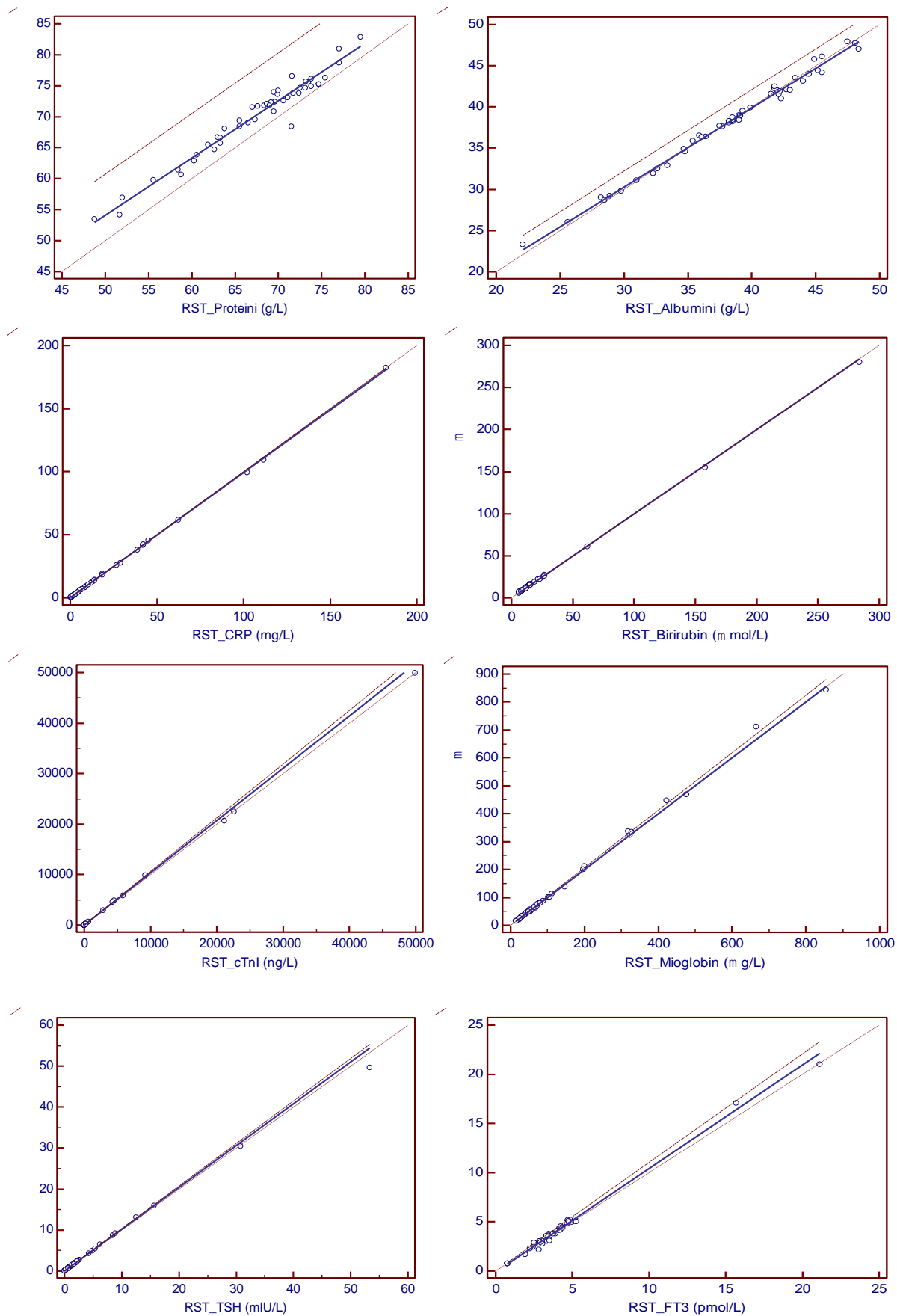
Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i standardne devijacije ili kao medijani i interkvartilni rasponi. Razina značajnosti (P) testirana je korištenjem parnog t-testa ili

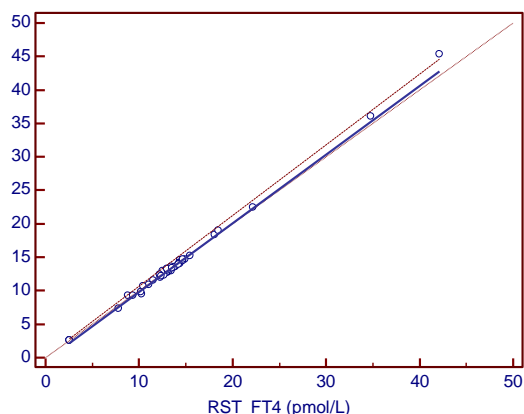
*Wilkokson testa.

Passing-Bablok regresijska analiza izmjerenih vrijednosti (Slika 3.) pokazuje da za ALP, TSH i FT3 postoji proporcionalna razlika u rezultatima između seruma i plazme, dok je za LDH, GGT, proteine, albumine, CRP i TnI ta razlika proporcionalna i konstantna.



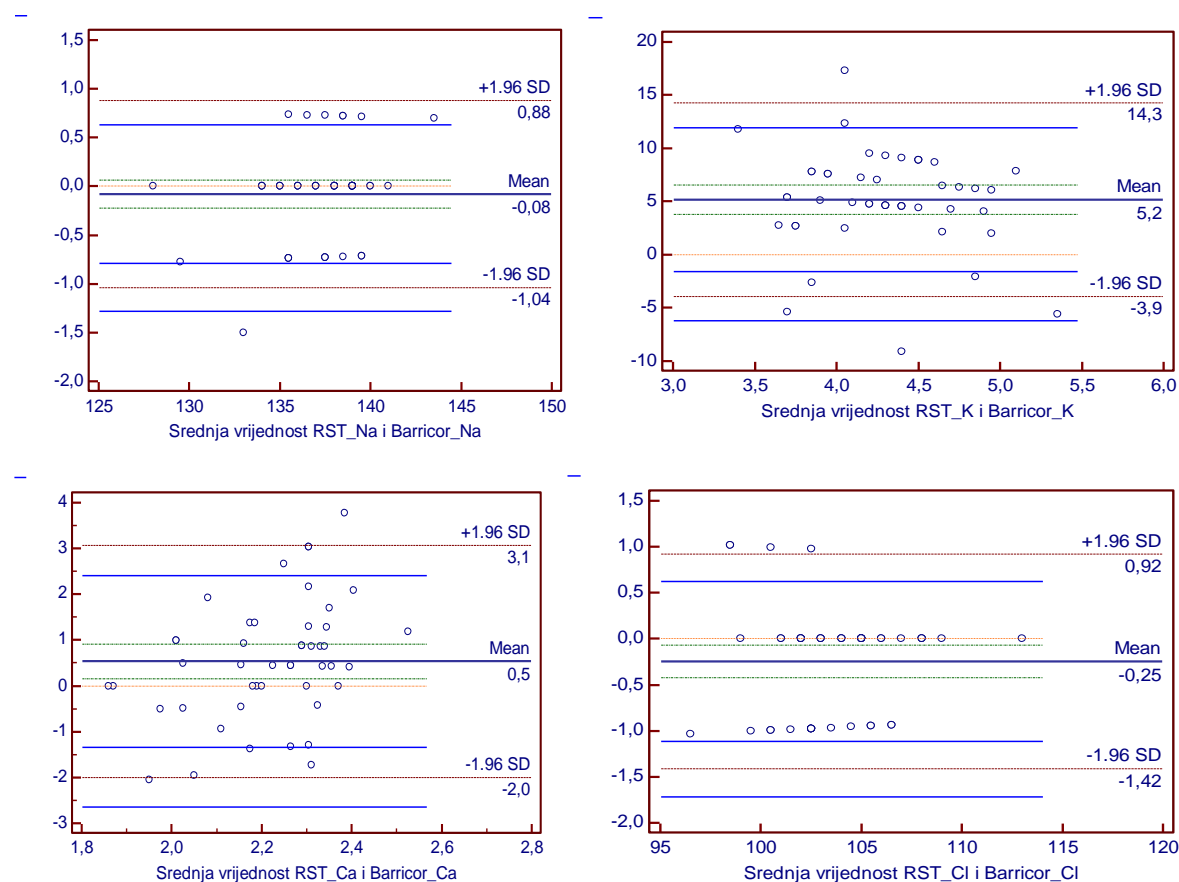


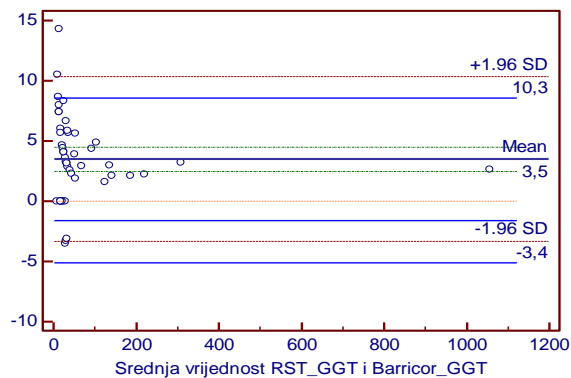
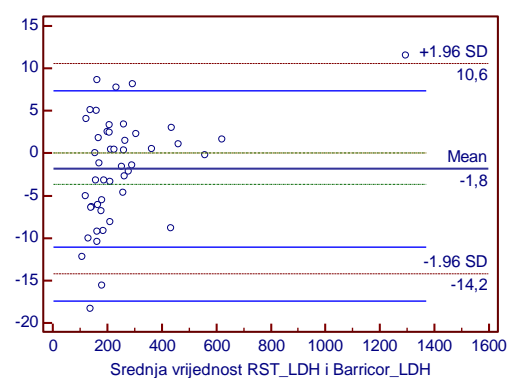
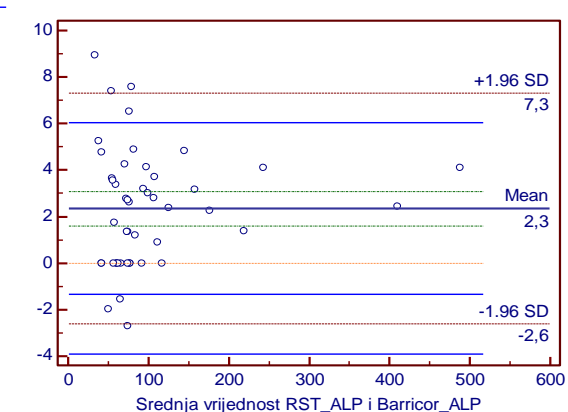
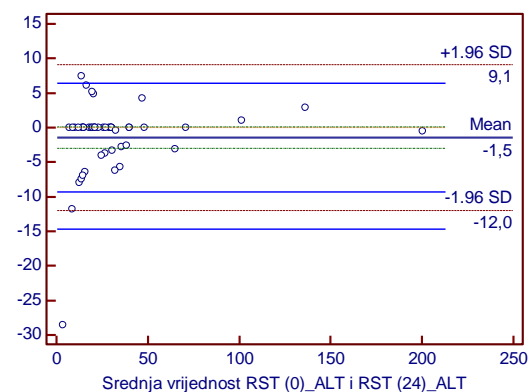
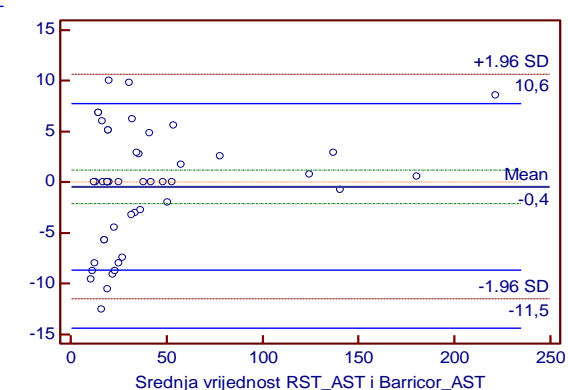
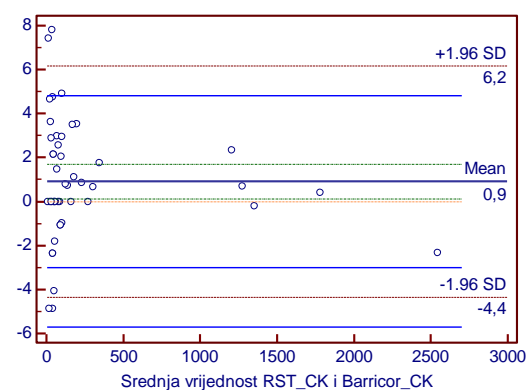
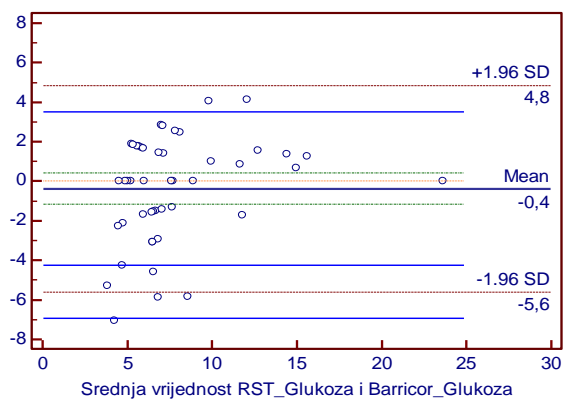
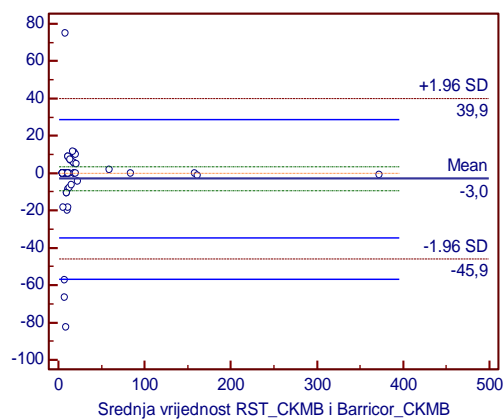


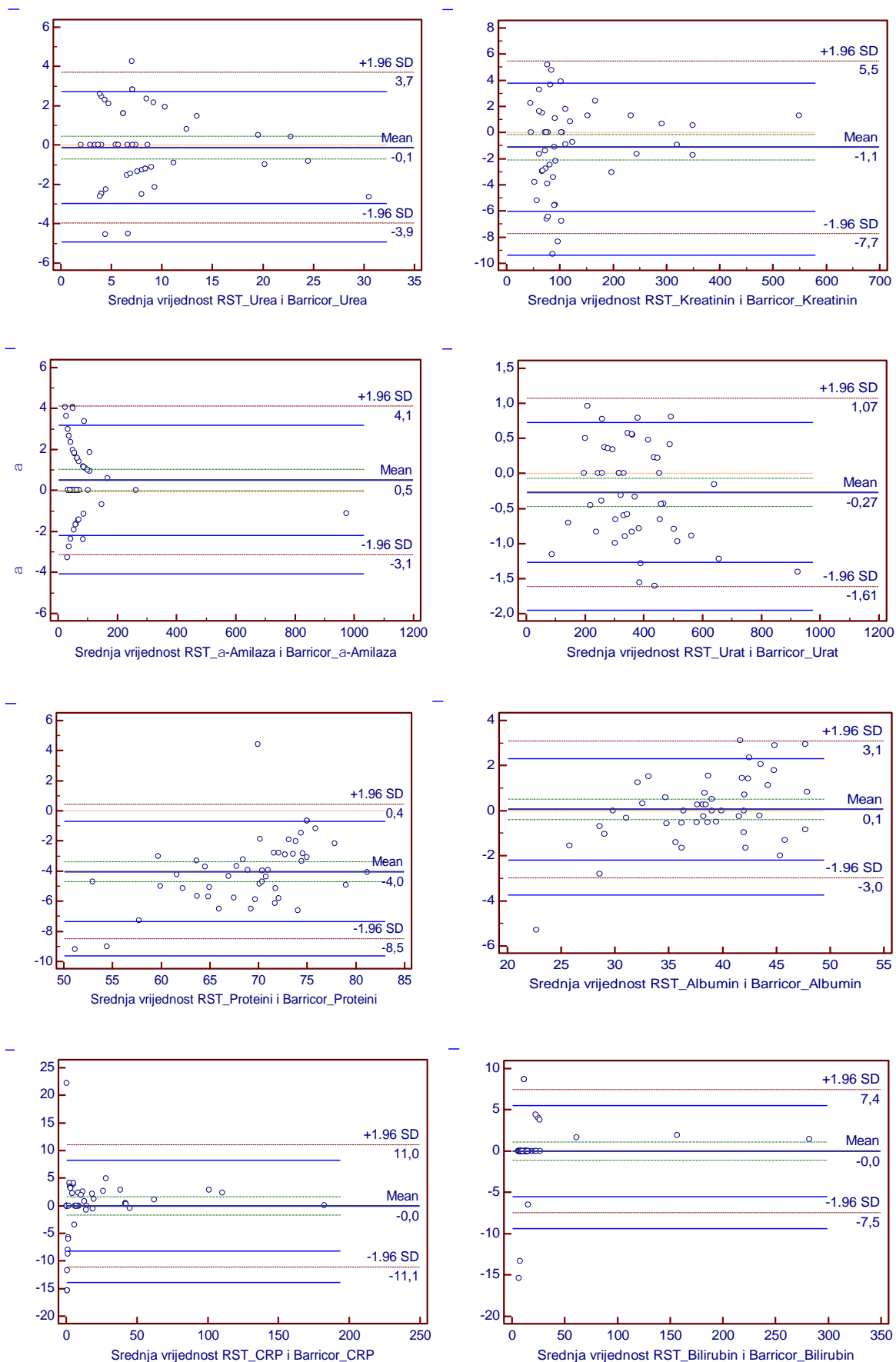


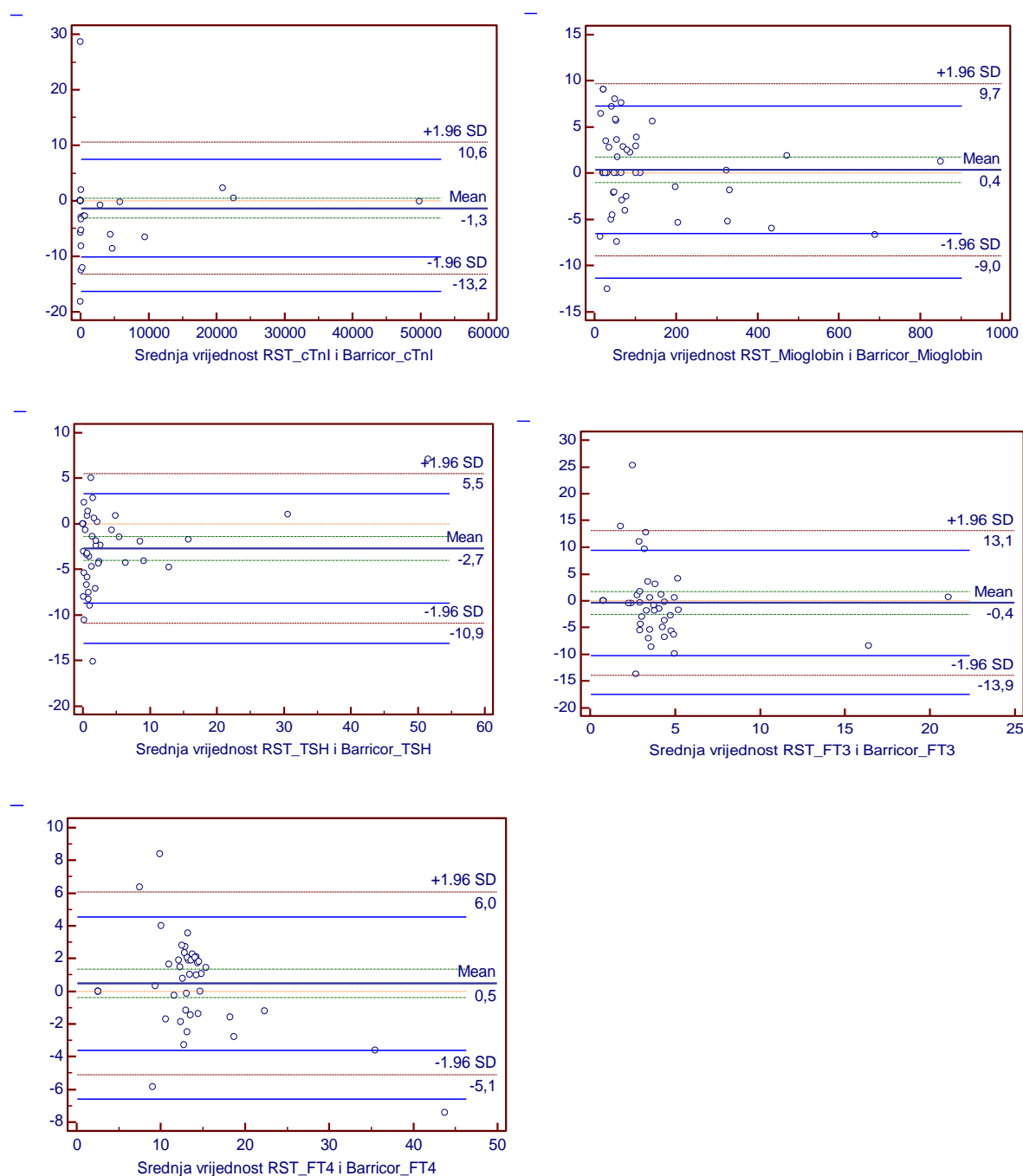
Slika 3. Usporedba rezultata izmjenjenih u serumu (RST epruveta) i u plazmi (Barricor epruveta) Passing-Bablok regresijskom analizom: točke predstavljaju mjerenja, puna crta predstavlja regresijski pravac, isprekidane crte granice pouzdanosti regresijskog pravca, a sitno isprekidana crta predstavlja idealan pravac.

Bland i Altman prikazi podataka pokazuju visoku prosječnu razliku u mjerenjima za K, proteine i CKMB (Slika 4.) između plazme i seruma.









Slika 4. Blandov i Altmanov prikaz podataka, usporedbe mjerenja uzoraka seruma (RST epruveta) i plazme (Barricor epruveta). Središnja puna linija predstavlja srednju vrijednost razlike u mjerenjima, a gornja i donja isprekidana crta standardnu devijaciju razlike u mjerenjima.

U uzorcima seruma (RST) i plazme (Barricor) ispitana je stabilnost analita nakon dvadeset četiri sata pohrane u hladnjaku na 2-8°C. Sumarni rezultati prikazani su u tablicama tri i četiri. Iako su i u serum i u plazmi dobivene statistički značajne razlike u mjerenjima brojnih analita

(inicijalno-0 vs nakon 24 sata), ta je razlika bila klinički značajna samo za glukozu i CKMB u uzorcima plazme.

Tablica 3. Usporedba rezultata biokemijskih parametara između RST (0) i RST (24) epruveta u inicijalnom vremenu

ANALIT	JEDINICE	N parova	RST (0)	RST (24)	PROSJEČNA NETOČNOST (%)	POŽELJNA DOZVOLJENA NETOČNOST(%)	P
Na	mmol/L	47	137±23	137±3	0,11	0,23	0,254
K	mmol/L	47	4,4±0,4	4,5±0,5	1,74	1,81	0,070
Ca	mmol/L	47	2,23±0,15	2,23±0,17	0,39	0,82	0,229
Cl	mmol/L	47	103±3	103±3	-0,06	0,5	0,595
Glukoza	mmol/L	47	6,6 (5,6-8,3)	6,6 (5,5-8,2)	-0,86	2,34	<0,001*
CK	U/L	47	77 (42-172)	76 (41-171)	0,10	11,5	0,285*
CKMB	U/L	47	12 (8-18)	11 (7-17)	6,10	7,8	0,027*
AST	U/L	47	24 (17-42)	25 (18-42)	2,20	6,54	0,007*
ALT	U/L	47	24 (17-42)	21 (15-35)	1,65	11,48	0,194*
ALP	U/L	47	75 (60-106)	75 (59-105)	-0,94	6,72	0,006*
LDH	U/L	47	203 (156-268)	202 (154-262)	-1,09	4,3	0,002*
GGT	U/L	47	30 (18-54)	30 (18-53)	1,26	11,06	0,162*
Urea	mmol/L	47	7,1 (4,4-8,8)	7,0 (4,5-8,6)	0,68	5,57	0,988*
Kreatinin	μmol/L	47	86 (72-112)	86 (71-113)	1,28	3,96	0,014*
α-Amilaza	U/L	47	59 (42-86)	59 (42-85)	-0,22	8,0	0,229*
Urat	μmol/L	47	369±144	369±146	-0,13	4,87	0,859
Proteini	g/L	47	67,5±6,9	67,6±6,9	-0,11	1,36	0,746
Albumini	g/L	47	38,4±6,1	38,3±6,1	-0,42	1,43	0,015
CRP	mg/L	47	6,3 (1,3-18,7)	6,0 (1,4-18,2)	-0,78	21,8	<0,001*
Bilirubin	μmol/L	47	12 (8-15)	11 (8-15)	-3,73	8,95	<0,001*
Tnl	ng/L	47	9 (9-117)	9 (9-119)	9,11	16,32	0,781*
Mioglobin	μg/L	47	56 (37-105)	57 (38-106)	-1,03	8,2	0,617*
TSH	mIU/L	43	1,250 (0,580-2,534)	1,200 (0,573-2,593)	-0,20	7,8	0,736*
FT3	pmol/L	43	3,45 (2,82-4,29)	3,53 (2,79-4,45)	2,38	4,8	0,022*
FT4	pmol/L	43	13,08 (11,72-14,36)	13,27 (11,80-14,47)	1,05	3,3	0,037*

Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i standardne devijacije ili kao medijani i interkvartilni rasponi. Razina značajnosti (P) testirana je korištenjem parnog t-testa ili

*Wilkokson testa.

Tablica 4. Usporedba rezultata biokemijskih parametara između Barricor (0) i Barricor (24) epruveta u inicijalnom vremenu

ANALIT	JEDINICE	N parova	BARRICOR (0)	BARRICOR (24)	PROSJEČNA NETOČNOST (%)	POŽELJNA DOZVOLJENA NETOČNOST(%)	P
Na	mmol/L	47	137±2,65	137±2,77	0,02	0,23	0,868
K	mmol/L	47	4,2±0,45	4,3±0,45	1,76	1,81	<0,001
Ca	mmol/L	47	2,21±0,14	2,22±0,16	0,30	0,82	0,408
Cl	mmol/L	47	104±3,11	103±3,06	-0,26	0,5	0,008
Glukoza	mmol/L	47	6,8 (5,5-8,6)	6,5 (5,2-8,2)	-3,81	2,34	<0,001*
CK	U/L	47	77 (42-168)	74 (39-168)	-2,91	11,5	<0,001*
CKMB	U/L	47	12 (9-18)	6 (5-14)	-23,68	7,8	<0,001*
AST	U/L	47	25 (18-42)	26 (18-42)	4,92	6,54	<0,001*
ALT	U/L	47	25 (18-42)	23 (15-35)	1,83	11,48	0,034*
ALP	U/L	47	74 (59-103)	74 (59-101)	-1,89	6,72	<0,001*
LDH	U/L	47	204 (162-266)	217 (165-275)	3,16	4,3	<0,001*
GGT	U/L	47	29 (17-52)	29 (18-52)	0,79	11,06	0,023*
Urea	mmol/L	47	6,9 (4,5-8,9)	7,0 (4,5-8,6)	0,26	5,57	0,724*
Kreatinin	μmol/L	47	90 (73-111)	87 (71-116)	-0,02	3,96	0,612*
α-Amilaza	U/L	47	60 (42-86)	59 (42-85)	-0,73	8,0	0,005*
Urat	μmol/L	47	370±146	370±145	0,14	4,87	0,568
Proteini	g/L	47	70,2±6,5	70,0±6,1	-0,33	1,36	0,228
Albumini	g/L	47	38,3±5,8	38,2±5,8	-0,40	1,43	0,020
CRP	mg/L	47	6,3 (1,4-18,7)	6,0 (1,4-18,2)	-1,54	21,8	0,229*
Bilirubin	μmol/L	47	12 (8-16)	11 (8-15)	-2,88	8,95	<0,001*
Tnl	ng/L	47	9,000(9,000-121,500)	9 (9-119)	5,82	16,32	0,385*
Mioglobin	μg/L	47	56 (36-102)	58 (38-105)	-0,92	8,2	0,606*
TSH	mIU/L	43	1,310 (0,605-2,606)	1,260 (0,605-2,608)	0,68	7,8	0,107*
FT3	pmol/L	43	3,50 (2,81-4,44)	3,62 (2,88-4,55)	1,94	4,8	0,065*
FT4	pmol/L	43	13,02 (11,69-14,21)	12,83 (11,69-14,80)	1,73	3,3	0,018*

Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti i standardne devijacije ili kao medijani i interkvartilni rasponi. Razina značajnosti (P) testirana je korištenjem parnog t-testa ili

*Wilkokson testa.

6. RASPRAVA

U ovom istraživanju verificirane su nove BD Barricor epruvete. Glavni rezultati istraživanja su: I) kraće vrijeme pripreme uzorka; II) statistički i klinički značajne razlike za kalij i proteine u usporedbi s referentnim epruvetama; III) zadovoljavajuća stabilnost uzorka tijekom dvadeset četiri sata pohrane, osim za glukozu i CKMB u uzorcima plazme.

Svaku novu ili izmijenjenu epruvetu, koja se uvodi u rutinsku laboratorijsku dijagnostiku, potrebno je verificirati, odnosno procijeniti odgovara li specifikacijama proizvođača, te jesu li dobiveni rezultati usporedivi s rezultatima dobivenim u referentnim epruvetama. Važnost verifikacije epruveta tek je u novije vrijeme prepoznata u znanstvenoj i stručnoj literaturi. Institut za kliničke i laboratorijske standarde 2010. godine izdao je prve smjernice za validaciju i verifikaciju epruveta za vensko i kapilarno vađenje krvi (11,13).

Serum je najčešće korišten uzorak za određivanje biokemijskih parametara. Budući da u njemu nema fibrinogena i fibrina, smatra se boljim matriksom, naročito za imunoanalize. Epruvete s gelom vrlo su popularne i rasprostranjene, posebice zbog stabilnosti analita, nepotrebnog alikvotiranja uzorka, te zbog značajno smanjene pojave hemolize, uslijed brzog odvajanja seruma od staničnog dijela. Međutim, latentno stvaranje ugruška, nakon centrifugiranja, predstavlja rizik interferencije na automatskim analizatorima. Osim toga, apsorpcija analita za gel, te posljedično krivi rezultat analize predstavljaju svojevrsnu opasnost prilikom korištenja takvih sustava za uzorkovanje. Naročito je taj fenomen opisan kod analize lijekova (1). U novije vrijeme sve se češće raspravlja o plazmi kao uzorku izbora za biokemijske analize, ponajprije zbog mogućnosti centrifugiranja, neposredno nakon uzorkovanja krvi i kraćeg vremena centrifugiranja, što rezultira smanjenjem TAT-a kojem stremlji svaki laboratorij, a naročito onaj za hitne analize. Uz to, nema stvaranja fibrinske mrežice (9,16). Posljednjih godina objavljene su mnoge studije vezane za upotrebu odgovarajućih epruveta u laboratorijima. U studiji iz 2017. godine Fatme Demet Arslan i sur. analizirana su dvadeset dva biokemijska parametra. Analiza odabranih parametara napravljena je iz četiriju različitih epruvete: BD Z epruvete (staklena serumska epruveta bez aditiva), BD SST II (plastične serumske epruvete), BD Lithium- heparin (litij- heparinske epruvete bez barijere) te BD Baricorr LH plasma tube (litij-heparinske epruvete s barijerom). Studijom je potvrđeno da je koncentracija ukupnih proteina, LDH i K u plazmi klinički i statistički različita u odnosu na serum (17). Stoga je nužno da laboratorij svaku novu epruvetu verificira ili, ako je potrebno, izradi nove referentne intervale.

U ovom istraživanju također je potvrđena statistička i klinička značajna razlika u koncentraciji K i proteina, što se podudara s navedenom studijom. Koncentracija K u plazmi je pokazala negativan bias u odnosu na serum. Takav rezultat je očekivan zbog oslobađanja K iz stanica tijekom zgrušavanja. Koncentracija ukupnih proteina u plazmi pokazala je pozitivan bias u odnosu na serum. Budući da serum ne sadrži fibrinogen, takav rezultat je očekivan (17). Statistički, značajna razlika među parovima vrijednosti dobivena je za još nekolicinu analita, no daljnjom analizom utvrđeno je da se te razlike ne odnose na područje koncentracija klinički značajne odluke.

Zanimljivo je da je svih četrdeset sedam uzoraka, uzorkovanih u dvije vrste epruveta, bilo prihvatljivo prema svim ispitivanim kriterijima prihvatljivosti uzorka. Rutinska praksa je, naravno, posve drugačija. Udio neprihvatljivih uzoraka, zbog hemolize, zasigurno je najučestaliji predanalitički problem. Nerijetko su epruvete napunjene neadekvatnim volumenom krvi, a prisutnost fibrinskih niti nakon centrifugiranja problem je zbog kojeg je postupak pripreme uzorka potrebno produžiti. Pravilnim rukovanjem, tj. provođenjem postupka uzorkovanja i pripreme uzoraka prema smjernicama osigurava se i kvalitetan uzorak, što je pokazano ovim istraživanjem.

Prema našim saznanjima ovo je prvo istraživanje koje se bavi usporedbom BD Barricor epruveta s RST epruvetama, napravljeno na velikom broju analita, na bolničkoj populaciji pacijenata koja je omogućila testiranje vrijednosti iz područja niskog i visokog koncentracijskog područja. Međutim, ograničenje istraživanja relativno je velik broj ispitanika s vrijednostima koncentracija TnI i CKMB ispod osjetljivosti testa. Drugo ograničenje nedostatak je informacija o trombolitičkoj terapiji. Naime, poznato je da u uzorcima krvi pacijenata na takvoj terapiji dolazi do sporog koaguliranja, te do naknadnog stvaranja koaguluma u serumu nakon centrifugiranja, što predstavlja ozbiljan analitički problem, pa bi korištenje plazme trebalo riješiti taj problem. Zbog toga bi bilo dobro istraživanje proširiti tako da se ciljano odaberu pacijenti koji primaju takvu terapiju, te uz podatak o primijenjenoj dozi utvrditi postoji li i koliki je taj utjecaj.

Nerijetko se iz već pohranjenih uzoraka traže dodatne analize ili je potrebna provjera prethodnog rezultata. Stoga je podatak o stabilnosti uzorka od velike važnosti za laboratorij. Također je poželjan uzorak koji će imati što bolju stabilnost, kako bi se ovi postupci mogli pouzdano provesti.

Mnogobrojnim studijama pokušavala se utvrditi stabilnost analita u određenim epruvetama. Ona uvelike ovisi o ispitivanim analitima, ispitanicima i veličini uzorka, vremenu i

temperaturi pohrane, analizatorima i statističkim analizama, te ju prema preporukama treba ispitati svaki laboratorij u danim uvjetima.

U studiji Anne Marie Dupuy i sur. iz 2018. godine određivana je koncentracija devet rutinskih biokemijskih parametara (AST, ALT, ALP, CRP, cTnT, LDH, NT-pro BNP, K, Na). Uzorci su prikupljeni u BD Lithium-heparin (litij-heparinske epruvete bez barijere) te BD Baricorr LH plasma tube (litij-heparinske epruvete sa barijerom). Mjerenja su obavljena odmah nakon centrifugiranja (T0), zatim nakon četiri, dvadeset četiri i sedamdeset dva sata. Studija pokazuje da je stabilnost uzoraka, pohranjenih na 2-8°C, izvrsna u obje epruvete za sve parametre, osim za AST (18). U našoj studiji obavljena su mjerenja odmah nakon centrifugiranja te nakon dvadeset četiri sata. Uzorci su također bili pohranjeni na 2-8°C u hladnjaku. Naši rezultati pokazuju usporedivu stabilnost, osim za GUK i CK-MB. Ti analiti u uzorcima plazme pokazuju negativan bias koji je veći od prihvatljivog. Nestabilnost GUK-a u uzorku plazme povezana je s činjenicom da se koncentracija GUK ubrzano snižava uslijed glikolize nakon dvadeset četiri sata pohrane na 2-8°C (8,19). Upravo se iz tog razloga za uzorkovanje i pohranu uzorka za analizu glukoze preporučuju epruvete sa stabilizatorom NaF. Stabilnost elektrolita u Barricor i PST II epruvetama, pod različitim uvjetima pohrane, ispitali su Luis Alfredo Bautista Balbas i sur. Dio uzoraka bio je pohranjen bez čepa na sobnoj temperaturi, a dio začepljen u hladnjaku na 2-8°C. Studija je pokazala da je isparavanje važan faktor koji određuje stabilnost elektrolita. Dokazana je klinički značajna nestabilnost Na i Cl u otvorenim epruvetama, i to već nakon tri sata. Pri uobičajenim uvjetima pohrane, u hladnjaku na 2-8°C, i u začepljenim epruvetama nije uočena smanjena stabilnost elektrolita. Takav rezultat potvrđuje i naše istraživanje, budući da su i naši uzorci pohranjeni začepljeni na 2-8°C, te nema statističkih niti klinički značajnih odstupanja za elektrolite. Elektroliti uzorkovani u Barricor epruvete prema rezultatima tog istraživanja su stabilni do 12.00 h, a uzorci u PST II epruvetama do 15.00 h. Također je zabilježen porast K u PST II epruvetama u odnosu na Barricor epruvete (20).

Konačno, temeljem provedenog istraživanja pokazano je da je Barricor epruveta prikladna za rutinsku primjenu u hitnoj dijagnostici, te da se može zamijeniti s postojećim RST epruvetama bez promjene referentnih intervala, osim za K i proteine. Za te analite potrebno je napraviti nove ili testirati postojeće referentne intervale za plazmu.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Ne postoji razlika u kvaliteti uzoraka između RST i BD Barricor epruveta. Svi uzorci su bili adekvatni prema kriterijima kvalitete, te je uzorak plazme potpuno prihvatljiv za provođenje laboratorijskih pretraga.
2. Usporedbom testne epruvete Barricor s referentnom epruvetom RST u inicijalnom vremenu (0) utvrđena je statistički značajna razlika za parove vrijednosti pri određivanju K, Ca, Cl, CK, ALP, GGT, urata, proteina, CRP, TnI i TSH, međutim klinički značajne razlike utvrđene su samo za K i proteine.
3. Ispitivanjem stabilnosti analita u uzorcima seruma(RST), nakon dvadeset četiri sata pohrane u hladnjaku na 2-8°C, utvrđeno je da nema klinički značajne razlike.
4. Ispitivanjem stabilnosti analita u uzorcima plazme (Barricor LH), nakon dvadeset četiri sata pohrane u hladnjaku na 2-8°C, utvrđeno je da nema klinički značajne razlike osim za GUK i CK-MB.
5. Vrijeme proteklo od primitka uzorka do izdavanja nalaza (TAT) kraće je za X minuta primjenom BD Barricor epruveta u odnosu na RST epruvete, skraćena je predanalitička obrada uzorka što je od izuzetne važnosti u hitnoj službi.

Iz svega navedenog proizlazi da se postojeći sustav RST epruveta može zamijeniti novim Barricor LH epruvetama, ali uz korekciju referentnih intervala za K i proteine.

8. SAŽETAK

Uvod

Svaku novu ili izmijenjenu epruvetu, koja se uvodi u rutinski rad laboratorija, potrebno je verificirati, odnosno procijeniti odgovara li specifikacijama proizvođača. Cilj verifikacije je ispitati jesu li rezultati dobiveni iz uzorka u novim ispitivanim epruvetama usporedivi s rezultatima iz kontrolnih epruveta.

Cilj istraživanja

Cilj istraživanja bio je verificirati epruvete BD Barricor za dvadeset četiri biokemijska analita iz hitnog programa pretraga.

Ispitanici i metode

Uzorci (N=47) pacijenata prosječne dobi 65 godina (22-87) uzorkovani su u dvije različite epruvete (Becton, Dickinson and Company): RST (referentna) i Barricor LH (testna) epruvete. Uzorci u RST epruvetama centrifugirani su unutar trideset minuta od uzorkovanja, deset minuta pri 1300 g, a uzorci iz Barricor LH epruvetama, tri minute pri 4000g. CRP je izmjeren imunoturbidimetrijskom metodom (ROCHE Diagnostics GmbH), GUK, CK, CK-MB, AST, ALT, ALP, LDH, GGT, urea, kreatinin, amilaza, urati enzimatskom metodom (ROCHE Diagnostics GmbH), Ca, proteini i albumini fotometrijskom metodom, te elektroliti Na, K i Cl indirektnom potenciometrijom. Za sve navedene analite korišten je analizator Olympus AU680 (BeckmanCoulter, Inc., USA). cTnI i Mgb su izmjereni imunokemijskom metodom na analizatoru Dimension EXL s LM (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, USA). Hormoni štitnjače: FT3, FT4 te TSH izmjereni su na Architect i2000SR instrumentu (Abbott Laboratories, Lake Forest, USA) kemiluminiscentnom, mikročestičnom imunoanalizom. Rezultati su obrađeni statističkim programom MedCalc, verzija 12.4.0.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

Rezultati

Srednje razlike u mjerenjima bile su u okviru klinički prihvatljivih odstupanja za sve testirane analite, osim za K i proteine: K -4,95% i proteini 4,15%. Ispitivanjem stabilnosti analita u uzorcima plazme u inicijalnom vremenu te nakon dvadeset četiri sata utvrđene su klinički značajne razlike za GUK -3,81% i CK-MB -23,68%.

Zaključak

Za sve pretrage, osim za K i proteine, dobiveno je prihvatljivo odstupanje rezultata u ispitivanim Barricor epruvetama u odnosu na kontrolne RST epruvete prema biološkim kriterijima prihvatljivosti. Postojeći sustav RST epruveta može se zamijeniti novim Barricor LH epruvetama, ali uz korekciju referentnih intervala za K i proteine.

Ključne riječi:verifikacije epruveta, serum, plazma, stabilnost uzorka

9. SUMMARY

Introduction

Each and every new or modified test tube introduced into the routine work of the laboratory needs to be verified, i.e. to assessed whether the manufacturer's specifications are correct. The aim of the verification is to examine whether the results obtained from the sample in the new test tubes are comparable with the results from the test tubes already in use.

Objective

The aim of the research was to verify BD Barricor tubes for 24 biochemical analytes from the emergency examination program.

Participants and Methods

Samples (N=47) from patients of average 65 years of age (22–87) were sampled in two different tubes (Becton, Dickinson and Company): RST (reference) and Barricor LH (test) tubes. Samples in RST tubes were centrifuged within 30 minutes from sampling, for 10 minutes at 1300 g, and samples from Barricor LH tubes, for 3 minutes at 4000 g. CRP was measured by the immunoturbidimetric method (ROCHE Diagnostics GmbH); GUK, CK, CK MB, AST, ALT, ALP, LDH, GGT, urea, creatinine, amylase and urates were measured by enzymatic method (ROCHE Diagnostics GmbH); Ca, protein and albumins were measured by photometric method, while Na, K and Cl electrolytes were measured by indirect potentiometry. For all the analyses mentioned, the Olympus AU680 (Beckman Coulter, Inc., USA) analyzer was used. Mgb and cTnI were measured by the immunochemical method on the Dimension EXL analyzer with LM (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, USA). Thyroid hormones FT3, FT4, and TSH were measured on the Architect i2000SR instrument (Abbott Laboratories, Lake Forest, USA) by chemiluminescent microparticle immunoassay. The results were processed by statistical program MedCalc, version 12.4.0.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

Results

The mean differences in the measurements were within the range of clinically acceptable deviations for all the tested analytes, except K and proteins: K -4.95% and proteins 4.15%. Analyzing the stability of analytes in plasma samples in initial time and after 24 hours, there were clinically significant differences found for GUK -3.81% and CK-MB -23.68%.

Conclusion

Acceptable deviation of the results in the analyzed Barricor tube with respect to the control RST tubes was obtained for all the tested analytes except for K and proteins. The existing RST tubes could be replaced with new Barricor LH tubes, but with the correction of reference intervals for K and proteins.

Key words: test tubes, serum, plasma, sample stability

10. LITERATURA

1. Šimundić, A.-M. Predanalitička faza laboratorijskog rada. Zagreb : Medicinska naklada, 2012.
2. Green SF. The cost of poor blood specimen quality and errors in preanalytical processes. Clin Biochem 2013;46:1175-9.
3. Clinical Chemistry, The Preanalytic Phase, An Important Component of Laboratory Medicine Am J Clin Pathol 2000;113:429-452
4. Bowen RA, Chan Y, Cohen J, Rehak NN, Hortin GL, Csako G, et al. Effect of blood collection tubes on total triiodothyronine and other laboratory assays. Clin Chem 2005;51:424-33.
5. Bowen RA, Kim SC, Sattayapiwat A, Austria-Esquerre V, Zare RN. Performance of chemically modified plastic blood collection tubes. Clin Biochem 2016;49:90-9.
6. Schouwens S, Brandt I, Willemse J, Van Regenmortel N, Uyttenbroeck W, Wauters A, et al. Influence of separator gel in Sarstedt S-Monovette® serum tubes on various therapeutic drugs, hormones, and proteins. Clin Chim Acta 2012;413:100-4.
7. Čvorišćec D. Čepelak I., Štrausova medicinska biokemija, Zagreb: Medicinska naklada; 2009.
8. Boyanton BL, Blick KE. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. Clin Chem 2002;48:2242-7.
9. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B, eds. Diagnostics samples: from the patient to the laboratory: the impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results. 4th ed. Weinheim: Wiley-Blackwell; 2009.
10. Guder WG, Narayanan S, eds. Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and Their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results. Berlin, Germany : De Gruyter; 2015.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI document GP34-A). Validation and verification of Tubes for Venous and Capillary Blood Specimen Collection; Approved Guideline. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
12. Becton Dickinson. Within-Tube Stability of Selected Routine Chemistry Analytes and Immunoassays in BD Vacutainer® Barricor™ Tubes in Comparison with BD Vacutainer® PST™ II and SST™ II

- Advance Tubes at Multiple Time Points Post Centrifugation. BD White Paper VS9295-OUS-WP. NJ, USA. 2016.
13. Lippi G, Cornes MP, Grankvist K, Nybo M, Simundic AM; Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE); European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). EFLM WG-Preanalytical phase opinion paper: local validation of blood collection tubes in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:755-60
 14. Bowen RA, Kim SC, Sattayapiwat A, Austria-Esguerra V, Zare RN. Performance of chemically modified plastic blood collection tubes. *Clin Biochem* 2016;49:90-9.
 15. WESTGARD QC. Desirable Biological Variation Database specifications. Dostupno na adresi: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. Datum pristupa: 28.08.2018.
 16. Bush VJ, Janu MR, Bathur F, Wells A, Dasgupta A. Comparison of BD Vacutainer SST Plus Tubes with BD SST II Plus Tubes for common analytes. *Clin Chim Acta* 2001;306:139-43.
 17. Arslan FD, Karakoyun I, Basok BI, Aksit MZ, Baysoy A, Ozturk YK, et al. The local clinical validation of a new lithium heparin tube with a barrier: BD Vacutainer® Barricor LH Plasma tube. *Biochem Med (Zagreb)* 2017;27:030706.
 18. Dupuy AM, Badiou S, Daubin D, Bargnoux AS, Magnan C, Klouche K, et al. Comparison of BarricorTM vs. Lithium heparin tubes for selected routine biochemical analytes and evaluation of post centrifugation stability. *Biochem Med (Zagreb)* 2018;28(2):020902
 19. Boyanton BL, Blick KE (2002) Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clin Chem* 48: 2242-2247.
 20. Balbás LA, Amaro MS, Rioja RG, Martín MJ, Soto AB. Stability of plasma electrolytes in Barricor and PST II tubes under different storage conditions. *Biochem Med (Zagreb)* 2017;27:225-230.

11. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Silvija Osvald

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Medicinski fakultet Osijek

Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

Josipa Huttlera 4, 31 000 Osijek

Datum i mjesto rođenja: 11. svibnja 1979., Osijek, Republika Hrvatska

Kućna adresa: Sv. Ane 62, 31 000 Osijek

Kontakt: +385 98 666 859

e-mail: silvijaos@live.com

Obrazovanje:

- 1994. – 1998. Medicinska škola Osijek, smjer zdravstveno-laboratorijski tehničar
- 2010. - 2013. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek, Preddiplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike
- 2015. –do danas, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek, Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike.

Radno iskustvo:

Klinički bolnički centar Osijek, Zavod za kliničku laboratorijsku dijagnostiku

- rujan 1998. - rujan 1999.: pripravnički staž
- travanj 2001. do danas.